

Diferencias en el consumo voluntario entre mamíferos y aves: Inmunización contra la grelina.

J. Vizcarra¹

Department of Food and Animal Sciences, Alabama A&M University, USA
Falta fecha de recibido y aceptado

Differential feed intake in mammalian and avian species. Immunization against ghrelin

ABSTRACT. Ghrelin, a growth hormone releasing peptide, was first isolated from the stomach of rats using "reverse pharmacology". Subsequently, it was isolated from chicken proventriculus, and the preproghrelin gene was characterized in turkeys. In mammals, ghrelin is a 28-amino acid peptide predominantly produced in the stomach that induces increases in feed intake in all species studied to date, including pigs. In contrast to mammals, significantly less is known about the effect of ghrelin on feed intake in turkeys and other avian species. In general, infusion of ghrelin in chickens and Japanese quail inhibits feed intake, while passive immunization against ghrelin increases feed intake. Taken together, the effect of ghrelin on feed intake in mammalian species is the opposite of that in poultry.

Key words: Feed Intake, Ghrelin, Pigs, Turkeys

RESUMEN: La grelina, un, polipeptido con propiedad de promover la soltura de la hormona de crecimiento fue identificada inicialmente en el estómago de ratas a través del proceso de «farmacología inversa.» Posteriormente, también fue identificada en el proventrículo de los pollos y el gen que codifica a la grelina fue identificado en los pavos. En los mamíferos, la grelina está formada por 28 aminoácidos, es producida fundamentalmente en el estómago y aumenta el consumo de alimentos en todas las especies estudiadas incluyendo los cerdos. Su efecto sobre el consumo voluntario es claro en los mamíferos, sin embargo el efecto en las aves es aun controversial. En general, cuando la grelina se administra en pollos o codornices japonesas, el consumo de alimentos se ve reducido, mientras que en pavos que han sido inmunizados en forma pasiva contra la grelina se registra un incremento en el consumo. En resumen, el efecto de la grelina en los mamíferos aparenta ser opuesto al que se ha observado en las aves.

Palabras clave: Cerdos, Consumo, Grelina, Pavos

Introducción

La grelina es un péptido de 28 aminoácidos producido principalmente en el estómago de los animales mamíferos (Kojima *et al.*, 1999), que ha generado gran interés debido a su efecto estimulador de la ingestión de alimentos (Hayashida *et al.*, 2001; Tschop *et al.*, 2000; Wren *et al.*, 2001). Los niveles circulantes de grelina aumentan antes de las comidas y se disminuyen tras el consumo de alimento en los humanos (Cummings *et al.*, 2001), vacunos (Hayashida *et al.*, 2001), roedores (Tschop *et al.*, 2000) y cerdos (Barretero-Hernandez *et al.*, 2010).

En las aves, el efecto de la grelina sobre el consumo de alimentos resulta complejo. La administración intracerebro-ventricular (ICV) de la misma inhibe el consumo de alimentos en pollos y codornices japonesas (Furuse *et al.*, 2001; Saito *et al.*, 2002; Shousha *et al.*, 2005; Xu *et al.*, 2011). Sin embargo, la administración sistémica de la grelina estimula el apetito en codornices japonesas (Shousha *et al.*, 2005), o no tiene efecto alguno en gallinas ponedoras (Kaiya *et al.*, 2007). En los pavos, la grelina también es un péptido de 28 aminoácidos cuyos primeros siete aminoácidos

¹Autor para la correspondencia, e-mail: jorge.vizcarra@aamu.edu

tienen una secuencia idéntica a la de los mamíferos (Richards *et al.*, 2006). La grelina, tanto en mamíferos como en aves, posee una característica única que la diferencia de otros péptidos. La clave se encuentra en la región N-terminal de la molécula que parece ser crucial para su actividad biológica.

Esta región contiene un grupo octanoil unido a la serina en posición 3 GSS (octanoid)F. Este grupo de aminoácidos constituye el "núcleo" o "centro activo" que es requerido tanto para cruzar la barrera hematoencefálica, como para la activación de los receptores (grelina acetilada).

Cuerpo

Con el objetivo de evaluar el efecto de la inmunización contra la grelina en aves y especies mamíferas, se realizaron dos experimentos usando las técnicas de inmunización activa y pasiva.

En el primer experimento, un grupo de cerdos fueron inmunizados en forma activa contra la grelina (Vizcarra *et al.*, 2007). Un fragmento de grelina sintética que contenía los primeros 10 aminoácidos (Grelina₁₋₁₀) fue conjugado con albúmina de suero bovino, como proteína portadora, mediante la reacción con carbodiimida. El conjugado resultante fue emulsificado en una fase acuosa con el adyuvante incompleto de Freund y el policonización de dextrano (DEAE). A las 19 sem de edad (día-0), los animales fueron inmunizados contra la grelina (n = 6) con un refuerzo a las 22 y a las 25 sem de edad. Los cerdos que se usaron como control (n = 6) no fueron inmunizados.

Se notó un cambio significativo en el aumento de los anticuerpos contra la grelina a los catorce días después de la inmunización primaria en los animales que fueron inmunizados con respecto a los animales que se usaron como control (Figura 1). Los animales inmunizados consumieron en promedio 15% menos comparado con aquellos que no fueron inmunizados (Figura 2), y como consecuencia del bajo consumo, el peso vivo de los cerdos inmunizados fue 10% menor que el peso de los animales usados como control a las 32 sem de edad (Figura 3). Estas observaciones concuerdan con los resultados obtenidos en ratas donde la inmunización contra la grelina también indujo una leve anorexia (Kojima *et al.*, 1999; Zorrilla *et al.*, 2006).

Al final del período experimental, los animales fueron sacrificados y un volumen importante de plasma fue conservado a -20 C. Luego, las muestras de plasma fueron usadas en otro experimento para evaluar el efecto de la inmunización pasiva contra la grelina en el consumo voluntario de pavos (Vizcarra *et al.*, 2012).

En el segundo experimento se usaron pavos de raza Blanca Gigante (Broad-Breasted White). A las 5 sem de edad, las aves fueron estratificadas por el nivel de consumo y peso vivo y asignadas en forma

aleatoria a un arreglo factorial de 2 x 5. Tres días antes de que se administraran los tratamientos (día-3), los animales fueron pesados y asignados a jaulas individuales con libre acceso al alimento y al agua. Durante el transcurso del día-0, los pavos recibieron inyecciones intravenosas (iv) de plasma de cerdos inmunizados contra la grelina. Las inyecciones se aplicaron a través de la vena braquial (debajo del ala) a diferentes dosis (0.5, 1.0, 2.0 4.0 o 8.0 mL; n = 20), o inyecciones (iv) de plasma de cerdos no inmunizados a las mismas dosis n = 20). Comenzando en el día-2 se registró el consumo de alimentos y agua a las 07:00, 12:00 y 17:00 h. No se encontraron diferencias significativas en el consumo de alimentos o agua antes de aplicar los tratamientos. Luego de aplicados los tratamientos, los pavos que fueron inmunizados en forma pasiva contra la grelina aumentaron significativamente el consumo de alimentos con respecto al control (Tabla 1). No se encontró un efecto de la dosis ni tampoco una interacción de la dosis con el tipo de plasma referente al consumo de alimentos. Tampoco se encontraron diferencias significativas en el consumo de agua.

En los mamíferos, la grelina aumenta el apetito mediante su acción en varios núcleos hipotalámicos y la activación de neuronas que expresan distintos neuropéptidos como la orexina, la proteína asociada a agouti (AgRP) y el neuropéptido Y (NPY) (Kojima and Kangawa, 2005). También se ha observado que en los mamíferos la grelina estimula la producción de la proteína quinasa activada por AMP (AMPK), lo cual sugiere que la AMPK está envuelta en el efecto orexigénico de la grelina (Kola, 2008; Kola and Korbonits, 2009). En claro contraste con los mamíferos, el efecto de la grelina a nivel hipotalámico en las aves no está relacionado con la activación del NPY. En pollos, la administración (ICV) de la grelina está asociada con un incremento de la hormona liberadora de corticotropina (CFH) sin que se observen cambios en la expresión del NPY (Saito *et al.*, 2005). Por su parte, la administración (ICV) de la grelina en pollos inhibe la expresión del gen de la AMPK (Xu *et al.*, 2011). Es probable que la diferencias en el

consumo voluntario entre mamíferos y aves esté relacionado con la activación de distintos neuropéptidos a nivel hipotalámico y el efecto

diferencial de la grelina sobre la expresión de la AMPK.

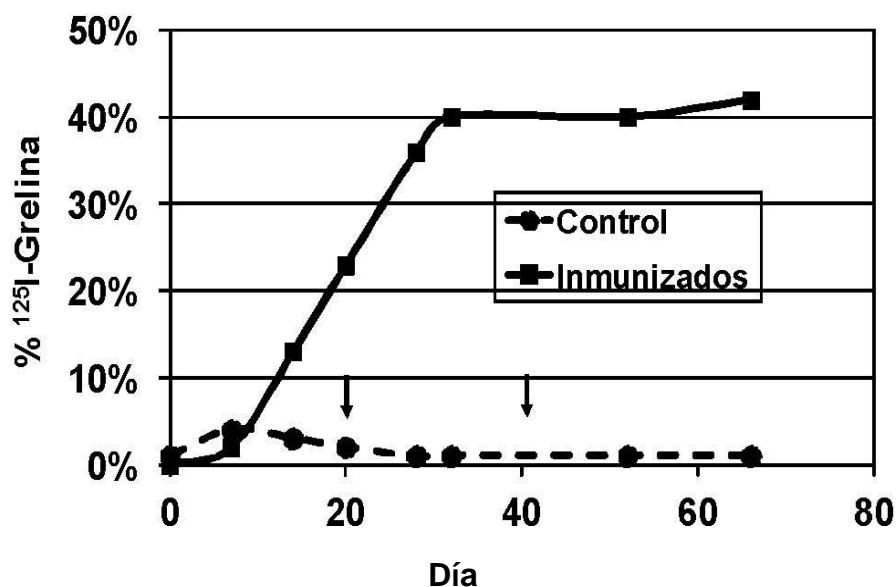


Figura 1. Efecto de la inmunización activa contra la grelina en el porcentaje de anticuerpos séricos ($P < 0.01$). La primera dosis fue administrada en el día 0 (19 semanas de edad) y los refuerzos fueron administrados en los días 20 y 40 (flechas)

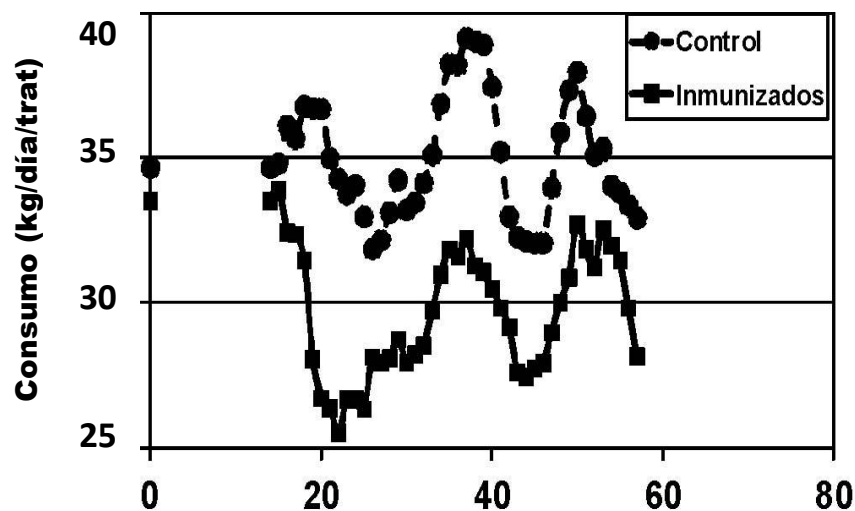


Figura 2. Consumo de alimento diario por tratamiento (promedio móvil de 7 días) en animales inmunizados contra la grelina y animales control. Las fluctuaciones cíclicas estuvieron asociadas con los cambios en la dieta y ajuste de los comederos.

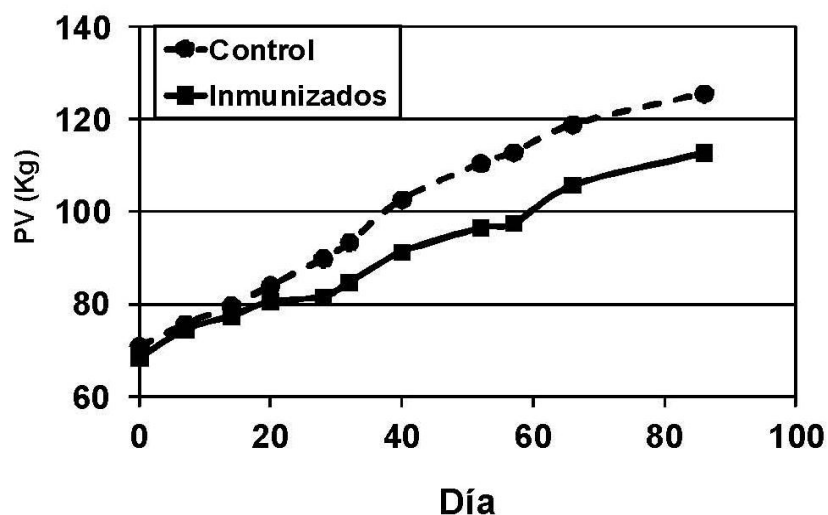


Figure 3. Cambio en peso vivo en animales inmunizados contra la grelina y animales control ($P < 0.01$)

Tabla 1. Consumo de alimentos y agua en pavos inmunizados en forma pasiva contra la grelina o animales control

Variable	Inmunizados	Control	$P =$	ES ¹
Consumo de alimento ²	6.3	4.8	0.04	0.70
Consumo de agua ²	16.4	15.1	0.64	1.8

¹ES=Error estándar

²Expresado en gramos consumidos de alimento o agua por unidad de tiempo (hora)

Consideraciones finales (Conclusiones)

En pavos, el efecto de la grelina en el consumo de alimentos es opuesto al efecto observado en especies mamíferas.

Literatura Citada

- Barretero-Hernandez, R., M. L. Galyean, and J. A. Vizcarra. 2010. The effect of feed restriction on plasma ghrelin, growth hormone, insulin, and glucose tolerance in pigs. *The Professional Animal Scientist* 26: 26-34.
- Cummings, D. E., J. Q. Purnell, R. S. Frayo, K. Schmidova, B. E. Wisse, and D. S. Weigle. 2001. A preprandial rise in plasma ghrelin levels suggests a role in meal initiation in humans. *Diabetes* 50: 1714-1719.
- Furuse, M., T. Tachibana, A. Ohgushi, R. Ando, T. YU. Yoshimatsu, and D. M. Denbow. 2001. Intracerebroventricular injection of ghrelin and growth hormone releasing factor inhibits food intake in neonatal chicks. *Neurosci. Lett.* 301: 123-126.
- Hayashida, T., T. K. Murakami, K. Mogi, M. Nishihara, M. Nakazato, M. S. Mondal, Y. Horii, M. Kojima, K. Kangawa, and N. Murakami. 2001. Ghrelin in domestic animals: distribution in stomach and its possible role. *Domest. Anim. Endocrinol.* 21: 17-24.
- Kaiya, H., E. S. Saito, T. Tachibana, M. Furuse, and K. Kangawa. 2007. Changes in ghrelin levels of plasma and proventriculus and ghrelin mRNA of proventriculus in fasted and refed layer chicks. *Domest. Anim. Endocrinol.* 32: 247-259.

- Kojima, M. H. Hosoda, Y. Date, M. Nakazato, H. Matsuo, and K. Kangawa. 1999. Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature* 402: 656-660.
- Kojima, M., and K. Kangawa. 2005. Ghrelin: structure and function. *Physiol. Rev.* 85: 495-522.
- Kola, B. 2008. Role of AMP-activated protein kinase in the control of appetite. *J. Neuroendocrinol.* 20: 942-951.
- Kola, B., and M. Korbonits. 2009. Shedding light on the intricate puzzle of ghrelin's effects on appetite regulation. *J. Endocrinol.* 202: 191-198.
- Richards, M. P., S. M. Poch, and J. P. McMurtry. 2006. Characterization of turkey and chicken ghrelin genes, and regulation of ghrelin and ghrelin receptor mRNA levels in broiler chickens. *Gen. Comp. Endocrinol.* 145: 298-310.
- Saito, E. S., H. Kaiya, T. Tachibana, S. Tomonaga, D. M. Denbow, K. Kangawa, and M. Furuse. 2005. Inhibitory effect of ghrelin on food intake is mediated by the corticotropin-releasing factor system in neonatal chicks. *Regul. Pept.* 125: 201-208.
- Saito, E. S. H. Kaiya, T. Takagi, I. Yamasaki, D. M. Denbow, K. Kangawa, and M. Furuse. 2002. Chicken ghrelin and growth hormone-releasing peptide-2 inhibit food intake of neonatal chicks. *Eur. J. Pharmacol.* 453: 75-79.
- Shousha, S., K. Nakahra, M. Kojima, M. Miyazato, H. Hosoda, K. Kangawa, and N. Murakami. 2005. Different effects of peripheral and central ghrelin on regulation of food intake in the Japanese quail. *Gen. Comp. Endocrinol.* 141: 178-183.
- Tschöp, M., D. L. Smiley, and M. L. Heiman. 2000. Ghrelin induces adiposity in rodents. *Nature* 407: 908-913.
- Vizcarra, J., H. Wright, and A. Vizcarra. 2012. The effect of passive immunization against ghrelin on feed and water intake in turkeys. *Poult. Sci.* In press.
- Vizcarra, J. A., J. D. Kirby, S. K. Kim, and M. L. Galyean. 2007. Active immunization against ghrelin decreases weight gain and alters plasma concentrations of growth hormone in growing pigs. *Domest. Anim. Endocrinol.* 33: 176-189.
- Wren, A. M. C. J. Small, C. R. Abbott, W. S. Dhillo, L. J. Seal, M. A. Cohen, R. L. Batterham, S. Taheri, S. A. Stanley, M. A. Ghatei, and S. R. Bloom. 2001. Ghrelin causes hyperphagia and obesity in rats. *Diabetes* 50: 2540-2547.
- Xu, P., P. B. Siegel, and D. M. Denbow. 2011. Genetic selection for body weight in chickens has altered responses of the brain's AMPK system to food intake regulation effect of ghrelin, but not obestatin. *Behav. Brain Res.* 221: 216-226.
- Zorrilla, E. P., S. Iwasaki, J. A. Moss, J. Chang, J. Otsuji, K. Inoue, M. M. Mejiler, and K. D. Janda. 2006. Vaccination against weight gain. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 103:13226-13231.